

1. アレルギー・アトピー性疾患の疫学と遺伝子解析

白川 太郎*・玉利 真由美**

気管支喘息、アトピー性皮膚炎をはじめとするアレルギー疾患は近年増加の一途をたどっており、一部の症例は難治性で社会生活に支障をきたすことから、予防法や根本的治療法の確立に向けて分子レベルでの病態解明が待たれる疾患である。一方、近年のゲノム解析の急速な進展により、さまざまな生命現象を分子レベルで明らかにするための技術や情報が整いつつある。

これまでに多くの疫学調査から、アレルギーの発症には遺伝的な背景（両親にアレルギー疾患の人がいると子供もアレルギー疾患になりやすい）があること、感染症の制圧と共にアレルギー疾患が増加し、衛生環境のよい都市部で罹患率が高いことなどが明らかとなっている。一方、アレルギー疾患患者において、ウイルスや細菌感染の合併が高頻度に見られることは临床上、大きな特徴であり、感染症のアレルギー疾患への発症進展への関与は古くから示唆されてきた。小児喘息の発症、悪化には季節性（9～10月）がありこの時期には生活環境において、ダニが増殖することが知られているが、一方でこの時期はライノウイルスによる気道感染症のピークと一致する。また近年、LPS や菌体への曝露が喘息の発症や重症度に影響することも報告されている。またマウスモデルではTLR4 を介した低濃度のLPS 刺激が吸入抗原の感作に必要であること、高濃度ではTh1 反応が誘導されること、抗原感作には抗原を取り込んだ樹状細胞が重要な役割を果たしていることが報告されている。これらの知見に基づいて、われわれはアレルギー疾患において、感染免疫に関係する遺伝子多型を系統的に解析し、感染に関連する遺伝子多型 = SNP と気管支喘息発症の相関を検討している。本稿では、このような疫学調査から最も喘息の発症に重要と思われるウイルス感染と理化学研究所におけるわれわれの遺伝子解析の結果を示し、喘息の本体に迫る問題について討論したい。

Genetic analysis for allergic or atopic disorders

TARO SHIRAKAWA Department of Health Promotion and Human Behavior, Kyoto University School of Public Health



*しらかわ・たろう：京都大学大学院医学研究科健康増進・行動学教授。昭和58年京都大学医学部卒業。昭和62年大阪大学医学部環境医学助手。平成11年ウェールズ大学医学部大学院実験医学部門助教。平成12年現職。主研究領域/アレルギー・遺伝子解析。健康科学。
**たまり・まゆみ：理化学研究所遺伝子多型研究センターアレルギー-体質関連遺伝子研究チーム。

Key words

TLR
アトピー
SNP
喘息

はじめに

気管支喘息，アトピー性皮膚炎をはじめとするアレルギー疾患は近年増加の一途をたどっており，一部の症例は難治性で社会生活に支障をきたすことから，予防法や根本的治療法の確立に向けて分子レベルでの病態解明が待たれる疾患である．一方，近年のゲノム解析の急速な進展により，さまざまな生命現象を分子レベルで明らかにするための技術や情報が整いつつある．

これまでに多くの疫学調査から，アレルギーの発症には遺伝的な背景（両親にアレルギー疾患の人がいると子供もアレルギー疾患になりやすい）があること，感染症の制圧とともにアレルギー疾患が増加し，衛生環境のよい都市部で罹患率が高いことなどが明らかとなっている¹⁾．一方，アレルギー疾患患者において，ウイルスや細菌感染の合併が高頻度にみられることは，臨床上大きな特徴であり，感染症のアレルギー疾患への発症進展への関与は古くから示唆されてきた²⁻⁴⁾．小児喘息の発症，悪化には季節性（9～10月）があり，この時期には生活環境において，ダニが増殖することが知られているが，一方でこの時期はライノウイルスによる気道感染症のピークと一致する．また近年，LPS や菌体への曝露が喘息の発症や重症度に影響することも報告されている^{5,6)}．またマウスモデルでは，TLR 4 を介した低濃度の LPS 刺激が吸入抗原の感作に必要であること，高濃度では Th1 反応が誘導されること，抗原感作には抗原を取り込んだ樹状細胞が重要な役割を果たしていることが報告されている⁷⁾．これらの知見に基づいて，われわれはアレルギー疾患において，感染免疫に係る遺伝子多型を系統的に解析し，感染に関連する遺伝子多型 = SNP (Single Nucleotide Polymorphism) と気管支喘息発症の相関を検討している（表）．

1．理化学研究所 SNP タイピング計画

SNP とは人口の 1% 以上の頻度で存在している一塩基多型と定義され，数百～千塩基対に 1 カ所程度に存在し，これらの遺伝情報の差が身長や性格等の個性を作り出していると考えられている⁸⁾．これまでアレルギー疾患において，SNP を用いた候補遺伝子の相関解析が数多く行われてきたが，その SNP のタイピングには高額なコストや煩雑な実験操作，一度に処理できるサンプル数が少ない等の問題があった．近年，理化学研究所において SNP を，早く，安価に，正確に行うタイピング手法として，一度にゲノム上の多数の領域を増幅する Multiplex PCR 法と，高感度に SNP をタイピングする Invader 法とを組み合わせた Multiplex PCR Invader 法が確立された（図⁹⁾）．われわれはこの方法を用いて，SNP のタイピングを行い，大規模かつ体系的に，気管支喘息，アトピー性皮膚炎等，アレルギー疾患の病態にかかわる遺伝子の同定を試みている．この方法ではわずか 0.05～0.1 ng のゲノム DNA で SNP をタイピングすることが可能であり，少ない量のゲノム DNA のサンプルでも大量の SNPs を検討することが可能である．現在，われわれのチームでは 1 日に 12,000 SNPs/日のタイピングが可能であり，感染免疫に関連する遺伝子多型のタイピングを集中的に行っている．

2．TLR と喘息

2003 年，白人の集団において TLR 4 の遺伝子多型と気管支喘息との相関を否定する報告もあったが¹⁰⁾，遺伝子多型は，その有無や頻度が人種によってかなり異なることがあり，欧米の SNP コンソーシアムに登録されている多型が，必ずしも日本人集団では認められ

表 候補遺伝子解析における候補遺伝子群

| | | |
|-----------------|---------------|---|
| ICAM-1 | 19p13.3-p13.2 | intercellular adhesion molecule 1 (CD54), human rhinovirus receptor |
| CD14 | 5q22-q32 | CD14 antigen |
| MD-1 | 6p24.3 | lymphocyte antigen 86 |
| RP105 | 5q12 | lymphocyte antigen 64 homolog, radioprotective 105kDa (mouse) |
| TLR2 | 4q32 | toll-like receptor 2 |
| TLR3 | 4q35 | toll-like receptor 3 |
| TLR4 | 9q32-q33 | toll-like receptor 4 |
| TLR5 | 1q41-q42 | toll-like receptor 5 |
| TLR9 | 3p21.3 | toll-like receptor 9 |
| TLR10 | 4p14 | toll-like receptor 10 |
| MyD88 | 3p22 | myeloid differentiation primary response gene (88) |
| TRIF | 19p13.3 | TIR domain containing adaptor inducing interferon-beta |
| TIRAP | 11q24.2 | toll-interleukin 1 receptor (TIR) domain containing adaptor protein |
| TOLLIP | 11p | toll interacting protein |
| IRAK-M | 12q14.2 | interleukin-1 receptor-associated kinase 3 |
| SOCS1 | 16p13.13 | suppressor of cytokine signaling 1 |
| SOCS3 | 17q25.3 | suppressor of cytokine signaling 3 |
| SIGIRR | 11p15.5 | single Ig IL-1R-related molecule |
| IFN β | 9p21 | interferon, beta 1, fibroblast |
| IFN α R1 | 21q22.1 | interferon (alpha, beta and omega) receptor 1 |
| IFN α R2 | 21q22.1 | interferon (alpha, beta and omega) receptor 2 |
| IFN γ | 12q14 | interferon, gamma |
| IFN γ R1 | 6q23-q24 | interferon gamma receptor 1 |
| IFN γ R2 | 21q22.11 | interferon gamma receptor 2 (interferon gamma transducer 1) |
| IRF1 | 5q31.1 | interferon regulatory factor 1 |
| IRF2 | 4q34.1-q35.1 | interferon regulatory factor 2 |
| IRF3 | 19q13.3-q13.4 | interferon regulatory factor 3 |
| IRF6 | 1q32.3-q41 | interferon regulatory factor 6 |
| IRF7 | 11p15.5 | interferon regulatory factor 7 |
| IRF8 | 16q24.1 | interferon consensus sequence binding protein 1 |
| IRF9 | 14q11.2 | interferon-stimulated transcription factor 3, gamma 48kDa |
| T-bet | 17q21.32 | T-box 21 |
| IL18BP | 11q13 | interleukin 18 binding protein |
| ICE | 11q23 | caspase 1, apoptosis-related cysteine protease (interleukin 1, beta, convertase) |
| IL18R1 | 2q12 | interleukin 18 receptor 1 |
| IL18RAP | 2p24.3-p24.1 | interleukin 18 receptor accessory protein |
| IL10R α | 11q23 | interleukin 10 receptor, alpha |
| IL10R β | 21q22.1-q22.2 | interleukin 10 receptor, beta |
| IL20RA | 6q22.33-q23.1 | interleukin 20 receptor, alpha |
| IL12B | 5q31.1-q33.1 | interleukin 12B , p40 |
| CX3CR1 | 3p21 | chemokine (C-X3-C motif) receptor 1 |
| I309 | 17q12 | inflammatory cytokine I-309 |
| Eotaxin2 | 7q11.23 | chemokine (C-C motif) ligand 24 |
| Eotaxin3 | 7q11.23 | chemokine (C-C motif) ligand 26 |
| C3 | 19p13.3-p13.2 | complement component 3 |
| C3aR | 12p13.31 | complement component 3a receptor 1 |
| C5 | 9q32-q34 | complement component 5 |
| C5aR | 19q13.3-q13.4 | complement component 5 receptor 1 (C5a ligand) |

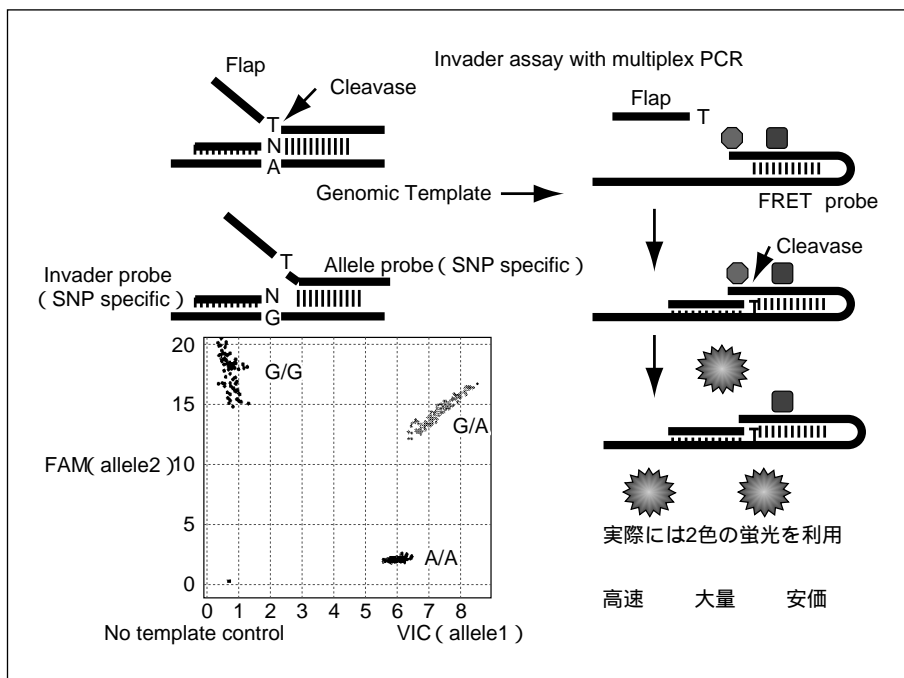


図 インバーダー法によるタイピング法

ないこともある。日本においては、東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターおよび科学技術振興事業団 (JST) との共同で、遺伝子の機能に密接な関連のある領域 (エクソンとその近傍のイントロン、および発現調節プロモーター領域) を中心に SNP データベースの構築が行われた。われわれはこのデータベースをもとに、日本人サンプル 24 人を PCR-Direct Sequence 法を用いて詳細に感染免疫に関連する遺伝子多型を検討し、データベースに含まれていない新たな遺伝子多型も含め、連鎖不平衡マップを作製した。この結果は今後、さまざまな感染症、自己免疫疾患、アレルギー疾患の病態解析に多大な貢献をするであろう。これまでにわれわれの検討では、ある感染防御に関連する遺伝子の SNP が小児喘息の発症に相関することが明らかとなった (投稿準備中)。その遺伝子多型の機能解析からは、感染防御遺伝子の発現が弱い個体が

喘息を発症しやすいことが示唆された。このような疾患発症に関与する遺伝子多型が多数同定されれば、疾患のリスク判定が可能となり、ハイリスク群では、ダニ対策を積極的に行う、室内ペットを飼わない、母親の喫煙を避ける等、指導を行うことにより、喘息の発症を避けたり、発症時期を遅らせたりすることが可能になるであろう。また、病態に関連する遺伝子が同定されることにより、新たな治療法、治療薬の開発につながる可能性がある。現在われわれは、小児喘息 400 例、成人喘息 500 例、アトピー性皮膚炎 400 例、コントロール 700 例、計約 1,500 症例を用いて遺伝子解析を行っているが、疾患発症に関与する遺伝子多型を正確にかつ多数同定するためには、多数の症例を解析することは必須である。2003 年 4 月より日本人集団で高血圧や糖尿病等、さまざまな疾患を対象とし、30 万人の DNA および血清を収集するというバイオ

バンクジャパンプロジェクトが開始された。このプロジェクトにおいては気管支喘息 18,000 例, アトピー性皮膚炎 6,000 例, 花粉症 6,000 例を目標に症例の収集が予定されており, それらを詳細に解析することによりアレルギー疾患でのオーダーメイド医療の実現が期待される。

〔文献〕

- 1) Yazdanbakhsh M, *et al* : Allergy, Parasites, and the Hygiene Hypothesis. *Science* 2002 ; 296 : 490 - 494.
- 2) Gern JE : Viral and bacterial infections in the development and progression of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000 ; 105 (2 Pt 2) : S 497 - 502.
- 3) Gern JE, Busse WW : Relationship of viral infections to wheezing illnesses and asthma. *Nat Rev Immunol* 2002 ; 2 : 132 - 138.
- 4) Message SD, Johnston SL : Viruses in asthma. *Br Med Bull* 2002 ; 61 : 29 - 43.
- 5) Liu AH : Endotoxin exposure in allergy and asthma : reconciling a paradox. *J Allergy Clin Immunol* 2002 ; 109 : 379 - 392.
- 6) Werner M, *et al* : TLR4 gene variants modify endotoxin effects on asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003 ; 112 : 323 - 330.
- 7) Eisenbarth SC, *et al* : Lipopolysaccharide-enhanced, toll-like receptor 4-dependent T helper cell type 2 responses to inhaled antigen. *J Exp Med* 2002 ; 196 : 1645 - 1651.
- 8) 中村祐輔編集 : SNP 遺伝子多型の戦略 ゲノムの多様性と 21 世紀のオーダーメイド医療 (松原謙一, 榊佳之監修). 中山書店, 東京, 2000.
- 9) Ohnishi Y, *et al* : A high-throughput SNP typing system for genome-wide association studies. *J Hum Genet* 2001 ; 46 : 471 - 477.
- 10) Raby BA, *et al* : Polymorphisms in toll-like receptor 4 are not associated with asthma or atopy-related phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 ; 166 : 1449 - 1456.

質 疑 応 答

座長(奥村) どうもありがとうございます。
た。

磯辺善成(いそべクリニック) 大変面白いご発表に感銘いたしました。教えていただきたいのですが, 先ほどの山本先生のお話でも, 一つ欠けていた点は局所免疫のことです。私たちの皮膚は, 皮脂腺から分泌される皮脂と, 汗腺および毛嚢から分泌されるといわれている分泌型 IgA が混じり合って, 皮膜として皮膚を保護してくれています。この皮膜のおかげで細菌, 常在菌であるブドウ状球菌, あるいはウイルスやカンジダなどといったものが侵入できないシステムになっているわけです。私は先生のお仕事の話をお聞きして, この皮膜を除去するような行為, すなわち界面活性剤として非常に強力な合成洗剤で皮膜を洗い落とすことによって, こういう防衛機構がなくなった結果ではないかとかねがね思っているのですが, いかがでしょうか。

白川 アトピー性皮膚炎の成因については, われわれもアレルギーチームなので当然みています。アレルギーの遺伝子解析については, 先ほども申しましたように SRC センターで粛々と行っております。

ご質問の環境要因につきましてはさまざまな要因があります。アトピー性皮膚炎というのは, すべてのアレルギー疾患の中で, オギャーと生まれて一番先に起こる食物アレルギーに続いて起こりますが, ほぼ 4 カ月くら



おくむら・こう : 順天堂大学医学部免疫学教授 . 昭和 44 年千葉大学医学部卒業 . 昭和 48 年千葉大学医学部助手 . 昭和 53 年東京大学医学部助手 . 昭和 55 年東京大学医学部講師 . 昭和 59 年現職 . 主研究領域 / 細胞免疫学 . 免疫遺伝学 .

いでアトピー性皮膚炎か、脂漏性湿疹かわかってきます。そのように一番早い疾患ですので、これは私の予測ですが、これはもうおなかの中にいる時点で勝負は決まっていると思います。手短かに申しますと、おなかの中にいるときにお母さんを通じて食物抗原が入ってきて、それが赤ちゃんの免疫系（この時期にはIgAはまだ産生していませんので）特にIgGを中心としたシステムを通じて刺激が入ってTh2サイトカインが多く出るというシステムになると思います。それがいわゆる体質として形成されてくると思います。そしてその後に皮膜などを除去するような界面活性剤がかかわる話が生まれるわけです。赤ちゃんの場合にどの程度その発症にかかわっているかわかりませんが、皮膚の側では、免疫が侵入してそのように起こるのか、外からの刺激がまずあって、皮膚がそのようにポロポロになっているから免疫が誘導されてそうなるのかという論争が皮膚科の先生方にもあるとうかがっています。私は現在データを持ち合わせませんが、そのような仮説がもし正しいとすれば、免疫系にかかわらず、外から入ってくる免疫に関係なく、最初に皮膜をとることが免疫系の誘導になると考えられますので、その仮説を実証する実験をしたうえで、その皮膚の中に、免疫学的にどのような変化が起こるかを証明する必要があります。

実際に私どもも、スプリングエイト（SPRING-8、放射光施設）で、中の金属がどのように変化するかと実験を行い、少なくとも大人ではある程度の変化が起こるとことはわかっています。しかし小児の段階でそれがどのように変わるかについては、まだデータがありませんのでわかりませんが、仮説としては非常に面白いと思います。

山本一彦（東大）先生方が大変なご苦勞をされて、アレルギーの遺伝子をつかまえようとしておられるご努力に敬意を表します。先

生のお話では、アレルギー疾患は今後もどんどん増えて行くかもしれない、そして人口の30%になるか、50%になるかということで、いまはその途中だと考えるときに、遺伝子はそう変異はしないわけですから、100年前からずっと同じですよ。現時点で、患者さんと健常人を分けることがどのくらいむずかしいかについて教えてください。

白川 先生のおっしゃる通りで、50年前は、アレルギー疾患は本当に数%だといわれていましたので、遺伝子は変わらないとすればその遺伝子は保全されているので、現段階でもそのような人は同じ割合で存在していると考えられます。そうすると、増加したものはそれ以外の原因、すなわち環境要因の変化によるものだと思いますので、その人たちは非常にマイルドで、ありとあらゆる環境要因によって増えてきたと考えられます。そういう方を多く集めてきて、どの遺伝子が関係しているかをみることはかなりむずかしいと思います。

そこでわれわれは、まず解析して集めてきたデータサンプルの中で、さまざまな遺伝子候補の遺伝子変異で、リスク群とハイリスクのアレルギーがありますので、それをいくつか持っているかということで、リスクが高い群と低い群とに分けます。今日はデータを示しませんので、詳しくは申しあげませんが、そう考えますと、リスクの高い群ではその遺伝子だけで説明のつく割合が約9割に達しますし、一方マイルドな群は非常に低く5~6割程度しか説明できません。おそらくそういう群は、かなり何らかの工夫をしない限りは、その人たちはどの遺伝子の組み合わせによってアレルギーが起こっているかを見つけるのはなかなか大変なので、まずはその遺伝素因が非常に強い群がどのような群であるかを最初にみつけようとしています。

磯辺 赤ちゃんは生まれてくるときには胎

脂をまとめて出てきます。あれは子供が自分の体を保護するという目的と、もう一つはつきりはわかりませんが、母親が子供を守るために、胎盤を通じてあのような被膜を子供に着せるともいわれていますが、いずれにしてもこれは非常に大切なものです。私はある産婦人科の先生と、この胎脂を除かずに、界面活性剤の強い洗剤で洗わずに、できればお湯だけで洗うことで観察してもらいました。その追跡調査は現実に出ているのですが、まだ解析が済んでいません。

白川 それは何例くらい追跡されたのですか。

磯辺 数としては500人程度あるのですが、そのうちでピックアップしたものは200例ほどです。1年たった赤ちゃんですので、その数は200例くらいしかありません。しかし印象としては、これはまず乳児湿疹から始まるのですが、その乳児湿疹の発症が何か少ないような感じです。これは間もなく発表した

いと思っています。

白川 私は専門ではないのでわからないのですが、先生は胎脂をはがさないことがどのくらいの期間 防衛に役に立つとお考えですか。

磯辺 お母さんが初乳を飲ませますと、その中に含まれている分泌型IgAが赤ちゃんの消化管の免疫にかかわってきますが、それは皮膚にも及んでいます。ですからしばらくの間でもそれを取り除かないことは、赤ちゃんの免疫を高めるためになっていると、私は考えています。

白川 それはよい仮説だと思います。赤ちゃんがおなかの中にいるときは羊水に接していますが、それがどうなっているかは非常に重要な観点です。私は腸内のほうが重要だと思ってそちらをみていますが、先生のお話も非常に面白い仮説だと思いますので、ぜひ発表していただきたいと思います。

座長 どうもありがとうございました。